

Über den Nachweis
von Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe
im „bacto-strip“-Verfahren

Wolfram Gedek

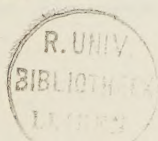
Aus dem Institut für Tierhygiene der Universität München
Vorstand: Professor Dr. A. M e y n

Über den Nachweis von Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe
im "bacto-strip"-Verfahren

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Wolfram Gedek
aus
Zittau/Sa.

München 1958



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Z i p f

Referent: Professor Dr. A. M e y n

Tag der Promotion: 25. Juli 1958

Inhaltsverzeichnis

I. EINLEITUNG

II. SCHRIFTTUM

A. Grundlagen des "bacto-strip" - Verfahrens

1. Wirkungsprinzip der Coli-Streifen

- a) Anwendung besonders präparierter Papiersorten
- b) Anwendung modifizierter coli-spezifischer Nähr-
medien
- c) Anwendung bestimmter modifizierter Tetrazolium-
verbindungen
 - aa) Allgemeines über Tetrazoliumverbindungen
 - bb) Tetrazoliumverbindungen und Bakterien

2. Praktische Anwendung der Coli-Streifen

B. Ergebnisse des "bacto-strip" - Verfahrens

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material

B. Methodik

C. Versuche und Versuchsergebnisse

- 1. Untersuchungen von pasteurisierter Milch
- 2. Untersuchungen von Rohmilch
- 3. Untersuchungen von künstlich infizierter Magermilch

D. Besprechung der Ergebnisse

IV. ZUSAMMENFASSUNG

V. LITERATURVERZEICHNIS

LEBENS LAUF



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. EINLEITUNG

Im Jahre 1886 entdeckte Escherich beim Studium der Darmflora von Säuglingen das *Bacterium coli*, einen ständigen Darmbewohner des Menschen und der meisten warmblütigen Tiere. Später wurde dieser Keim auch als Erreger von Enteritiden, Cystitiden und anderen Krankheitsprozessen des Menschen und der Haustiere beschrieben.

Bei der hygienisch-bakteriologischen Untersuchung von Wasser und Lebensmitteln wird *Escherichia coli* als Anzeichen einer faekalen Verunreinigung gewertet. Dabei kann der Nachweis von Colibakterien auch als Hinweis für eine mögliche Infektion mit pathogenen Darmkeimen, insbesondere mit Salmonellen, gewertet werden.

In der Milchhygiene gelten *E. coli* und Keime mit ähnlichen Eigenschaften, in erster Linie Aerogenesbakterien, als Gradmesser der Verunreinigung bei der Gewinnung und Verarbeitung der Milch. Der Gebrauchswert der Milch kann durch Keime der Coli-Aerogenes-Gruppe unter Umständen erheblich herabgesetzt werden.

Der qualitative und quantitative Nachweis von Coli- und Aerogenesbakterien konnte bisher nur in einem bakteriologischen Laboratorium durchgeführt werden. In den meisten Fällen kann dabei bei Anwendung der dort üblichen Methoden mit den Untersuchungsergebnissen erst in etwa zwei Tagen gerechnet werden. Mit dem von F ö r g entwickelten neuartigen "bacto-strip"-Verfahren soll es dagegen möglich sein, mit geringem Arbeits- und Materialaufwand und auch ohne die Arbeitsgeräte eines bakteriologischen Laboratoriums, schon innerhalb von 8 - 10 Stunden einen qualitativen und quantitativen Nachweis von Keimen der Coli-Aerogenes-Gruppe in Flüssigkeiten, insbesondere in der Milch, zu führen.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es deshalb, die Leistungsfähigkeit dieses neuartigen "bacto-strip"-Verfahrens im Vergleich zu der des herkömmlichen Plattenkulturverfahrens einer eingehenden Prüfung zu unterziehen.

II. SCHRIFTTUM

A. Grundlagen des "bacto-strip"-Verfahrens

1. Wirkungsprinzip der Coli-Streifen

a) Anwendung besonders präparierter Papiersorten

Im "bacto-strip"-Verfahren nach F ö r g (10, 11, 12, 13) tritt Papier mit besonderer Saugfähigkeit an die Stelle der sonst bei bakteriologischen Untersuchungen zur Entnahme der Testflüssigkeit üblichen Pipette. F ö r g (11) weist darauf hin, daß es grundsätzlich möglich ist, Papiersorten herzustellen, deren Saugfähigkeit so beschaffen ist, daß jede Flächeneinheit einem bestimmten Saugvolumen entspricht. So wurden Papierstreifen bestimmter Länge, Breite und Dicke entwickelt, die 0,1 ml und solche, die 1,0 ml Flüssigkeit aufzusaugen vermögen. Die Genauigkeit, mit der die Flüssigkeitsmenge aufgesaugt wird, ist mit einer Schwankungsbreite von $\pm 0,05$ ml für die 1,0 ml-Streifen und mit einer solchen von $\pm 0,02$ ml für die 0,1 ml-Streifen angegeben.

b) Anwendung modifizierter coli-spezifischer Nährmedien

Da diese Streifen gleichzeitig zum Nachweis von Keimen der Coli-Aerogenes-Gruppe dienen sollen, sind sie mit einem für das Wachstum dieser Bakterien spezifischen Nährmedium durchtränkt. Das Verhältnis von aufgesaugter Untersuchungsflüssigkeit zu Nährmedium ist dabei für die Papierstreifen grundsätzlich konstant. Wie F ö r g (13) ausführt, enthalten die verschiedenen Coli-Streifen Nährmedien, die Modifikationen bekannter, zum Nachweis von Coli-Aerogenesbakterien in der Milch dienender Nährböden darstellen. Bei diesen Nährböden handelt es sich um den Desoxycholat-Agar nach Leifson, die Brilliantgrün - Galle-Bouillon und den Violettröt-Galle-Agar, um Nährböden also, die bei uns in Deutschland weniger gebräuchlich sind, aber in Amerika beispielsweise in die Standard Methode for the Examination of Dairy Products (38) aufgenommen wurden. Nach dem Difco Manual (8) haben die dehydrierten Nährmedien folgende Zusammensetzung:

Desoxycholat - Agar

Bacto-Pepton 10g

Bacto-Laktose 10g

Natriumdesoxycholat 1 g
Natriumchlorid 5 g
Dikaliumphosphat 2 g
Ferricitrat 1 g
Natriumcitrat 1 g
Bacto-Agar 15 g
Bacto-Neutralrot 0,03 g

Brillantgrün - Galle 2%

Bacto-Pepton 10 g
Bacto-Laktose 10 g
Bacto-Rindergalle 20 g
Bacto-Brillantgrün 0,133 g

Violettrot - Galle - Agar

Bacto-Hefeextrakt 3 g
Bacto-Pepton 7 g
Bacto-Gallesalze Nr. 3 1,5 g
Bacto-Laktose 10 g
Natriumchlorid 5 g
Bacto-Agar 15 g
Bacto-Neutralrot 0,03 g
Bacto-Kristallviolett 0,02 g

Für den Nachweis von Coli-Aerogenesbakterien im "bacto-strip"-Verfahren wurden diese Nährmedien von F ö r g modifiziert. So sind die weißen Coli-Streifen mit einem natriumdesoxycholathaltigen, die grünen mit einem brillantgrün - galle - haltigen und die Cored-Streifen mit einem kristallviolett-neutralrot-galle-haltigen Nährmedium getränkt.

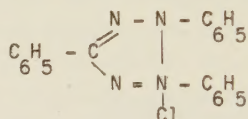
c) Anwendung bestimmter modifizierter Tetrazoliumverbindungen

Die Coli-Streifen sind nach F ö r g (11) unter "Verwendung bestimmter modifizierter Tetrazoliumverbindungen" entwickelt worden. Die Tetrazoliumverbindungen stellen den Indikator im "bacto-strip"-Verfahren dar. Die sich auf den Streifen entwickelnden Coli- und Aerogenesbakterien vermögen in durchschnittlich 8 - 10 Stunden (Desoxycholat-, Brillantgrün -Streifen) bzw. 12 - 14 Stunden (Cored-Streifen) die Tetrazoliumverbindungen zu rotem bzw. blauschwarzem Formazan zu reduzieren. Wie F ö r g (14) betont, enthalten die

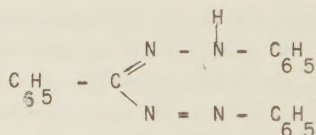
Streifen Tetrazoliumverbindungen in einer Konzentration, die keine Hemmwirkung auf Bakterien ausübt.

aa) Allgemeines über Tetrazoliumverbindungen

Die Tetrazoliumverbindungen wurden 1894 von v. P e c h m a n n und R u n g e (27) entdeckt. Diesen Autoren gelang es, aus Formazanen unter spezifischen Oxydationsbedingungen Tetrazoliumbasen, d.h. Verbindungen herzustellen, die mit Mineralsäuren Tetrazoliumsalze ergaben. Die Tetrazoliumsalze sind farblose, im allgemeinen gut wasserlösliche Substanzen von bitterem Geschmack. Von den Tetrazoliumsalzen ist das bekannteste das 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC), das folgende Strukturformel hat:



Diese fünfgliedrige, heterozyklische Verbindung ist ein farbloses Pulver, dessen wässrige Lösung neutral reagiert und giftig ist. TTC läßt sich, wie die Tetrazoliumverbindungen überhaupt, in Formazan überführen. Dabei wird der Tetrazol-Ring reaktiv aufgespalten, ein Vorgang, der sich unter mildesten Bedingungen mit Reduktionsmitteln wie etwa Schwefelwasserstoff oder Ascorbinsäure in soda-alkalischer Lösung einstellt (30). Aus TTC entsteht durch Reduktion Triphenylformazan (TF), das folgende Strukturformel aufweist:



TF ist chemisch ein Hydrazon und Azofarbstoff, eine tiefrote, gut kristallisierende Substanz, die man in Wasser kaum, in organischen Lösungsmitteln gut lösen kann. Des weiteren ist das lipoidlösliche TF absolut luft- und sauerstoffunempfindlich. Nach Einwirkung von katalytisch erregtem Wasserstoff zeigt sich bei der Reduktion von Tetrazoliumsalzen, daß die Formazan-Stufe überschritten wird. J e r c h e l und K u h n (20) wiesen nach, daß in diesem Fall die N = N - Doppelbindung durch eine hydrierende Azospaltung aufgelöst wird.

Die Lichtempfindlichkeit der Tetrazoliumverbindungen war bereits v. P e c h -

mann und Runge (27) bekannt. Hausser, Jerchel und Kuhn (19) sahen beim Bestrahlen einer wässrigen Lösung von TTC viel rotes Formazan ausfallen. In neuerer Zeit gelang es, Formazane mit blauer und nahezu schwarzer Lösungsfarbe herzustellen (30).

Die Reduktion von Tetrazoliumsalzen ist ein irreversibler Vorgang, den man nur unter spezifischen Oxydationsbedingungen rückgängig machen kann. Daher gelang es Jerchel und Möhle (21) nicht, das Reduktions-Oxydationspotential in der üblichen Weise zu bestimmen. Nach einem neuen Verfahren ermittelten sie das Redoxpotential für TTC bei $-0,083$ Volt. Das Redoxpotential von Methylenblau liegt bei $+0,011$ Volt.

Kuhn und Jerchel (23) erkannten als erste die Eignung der Tetrazoliumsalze, Reduktionsvorgänge in der lebenden Zelle sichtbar zu machen. Im Zusammenhang mit ihren Untersuchungen über Invertseifen stießen sie auf die Tetrazoliumsalze. Sie versetzten im Gärprozeß befindliche Hefe mit Tetrazoliumsalzlösung und beobachteten, daß sie die Hefe rot färbte. Erst nach Autolyse der Hefezellen ließ sich der Farbstoff in Lösung bringen.

Als Moewus (26) Samen der Gartenkresse (*Lepidium sativum*) auf Filterpapier brachte, das mit Tetrazoliumsalzlösung getränkt war, erfolgte eine normale Keimung. Die Blätter der jungen Pflänzchen waren aber nicht grün, sondern rot gefärbt.

Lakon (24) benutzte TTC zum topographischen Nachweis der Keimfähigkeit von Getreidefrüchten. Das entstandene TF färbte die lebenden Gewebepartien der Embryonen von Getreide intensiv karminrot, während die nekrotischen Partien völlig farblos blieben.

Nach Mattson, Jensen und Dutcher (25) sind auch Äpfel, Zitronen, Orangen, Pilze und Stiersperma in neutraler Reaktion imstande, TTC zu TF zu reduzieren. Für die Reduktion ist vor allem das Dehydrogenase-System (Cozymase I und II) verantwortlich. Kuhn und Jerchel (23) wiesen nach, daß Ascorbinsäure, Cystein und Glutathion als reduzierende Zellbestandteile gegenüber TTC nicht in Frage kommen. Sie sind in neutraler Lösung ohne Wirkung, erst bei einem p_H - Wert über 9 bewirken sie Formazanbildung.

Nach den Untersuchungen von Doerr und v. Lüttichau (9) ist TTC geeignet, in der Histophysiologie Gewebszonen mit lebhafter Stoffwechsel-tätigkeit, in der Entwicklungsphysiologie Keimzentren und Gebiete mit vermehrter Wachstumstätigkeit zu markieren. Unter physiologischen Bedingungen zeigen wachsendes Gewebe (Knorpelknochengrenze), Niere, Herzmuskel, Leber,

Darm und Skelettmuskulatur die stärkste Formazanbildung.

B e c k e r und Q u a d b e c k (2) beobachteten, daß die graue Hirnsubstanz stärker durch Formazanbildung gefärbt wird als die weiße.

S t r a u s, C h e r o n i s und S t r a u s (39) versuchten ohne Erfolg, die Tetrazolium-Reduktion als Carcinomdiagnosticum einzuführen. Die durch Formazanbildung entstandenen rotgefärbten Zellbereiche liegen bei Mäuse-Ascites-Tumorzellen, wie S i e g e r t (37) berichtet, um die Zellkerne angeordnet.

bb) Tetrazoliumverbindungen und Bakterien

V. C z e r n u c k i - H r e b e l j a n o w i t s c h (7) stellte fest, daß Colibakterien gegenüber der bakteriziden Wirksamkeit verschiedener Tetrazoliumsalze auffallend resistenter sind als Staphylokokken, Diphtherie-, Paratyphus B- und Friedländer-Bakterien. Des weiteren waren die genannten Bakterien in einer mit Tetrazoliumsalz versetzten Nährlösung nicht nur selbst rotgefärbt, sondern die Formazanverbindungen fielen auch in dicken roten Flocken aus. Ohne Bakterien erfolgte keine Reaktion zwischen Tetrazoliumsalz und Nährlösung. Gegenüber einer mit TTC in verschiedenen Verdünnungsstufen von 1 : 50 bis 1 : 40 000 versetzten Bouillon zeigten die von W u n d t (40) geprüften Bakterienstämme in ihrem Wachstum ein verschiedenes Verhalten. Während beispielsweise die Shiga-Kruse-Bakterien bis zu einer Verdünnung des TTC von 1 : 20 000 überhaupt kein Wachstum zeigten, wurden die Bakterien der Coli-Aerogenes- und der T-P-E-Gruppe nur bis zu einer Verdünnung von 1 : 50 in ihrem Wachstum gehemmt. Bei einer Verdünnung von 1 : 100 setzt bereits Formazanbildung ein. Die untersuchten Bakterienstämme waren nur in der Verdünnung des TTC zur Reduktion, also zur Bildung von Formazan befähigt, in der sie wachsen konnten. W u n d t (40) kommt zu dem Ergebnis, daß alle Bakterien in der Lage sind, TTC zu Formazan zu reduzieren, wenn die TTC-Konzentration im Nährmedium ihr Wachstum zuläßt. Die Reduktion tritt bei einem p_{H} -Wert von 8 - 9 am raschesten ein, während saures Milieu die Reduktion hemmt. Nach W u n d t (40) ist TTC wegen seiner, an die lebende Zelle gebundenen unspezifischen Reduktionsleistung als Differentialdiagnosticum nicht geeignet.

B i e l i g, K a u s c h e und H a a r d i c k (3) beobachteten bei E. coli und S. typhi nach 1 bis 30 Minuten langer Einwirkung von TTC die durch bakterielle Reduktion entstandenen Farbbereiche, die sie als "Reduktionsorte" bezeichnen. Im mikroskopischen Hellfeld sind es tiefrot gefärbte Bezirke, die im allgemeinen an den Zellpolen liegen. Im Dunkelfeld erscheinen sie als gelb- bis rubinrot leuchtende Kügelchen vom Durchmesser der Bakterien. Nach ihren

Beobachtungen stimmt der rotgefärbte Reduktionsort überein mit dem für Elektronen undurchlässigen Gebiet der Bakterienzelle. Im UV-Mikroskop erscheint ihnen der gleiche Bezirk als besonders nukleinsäurehaltig. Nach der Auswertung von Feulgen- und Giemsa-Präparaten vermuten sie, daß der Reduktionsort thymonucleinsäurehaltiges Nucleoproteid und Ribonucleinsäure enthält. Das p_H -Optimum der Formazanbildung in Colibakterien liegt bei 8,4.

Mit dieser Arbeit setzten sich P r e u n e r und v. P r i t t w i t z und G a f f r o n (29) kritisch auseinander. Sie betonen, daß der Redox-indikator TTC nicht geeignet sei, bei der Aufklärung der Feinstruktur der Mikroben mitzuwirken, da er möglicherweise in der Lage sei, diese selbst zu verändern.

S c h ö n b e r g (32) hält 1%ige wässrige TTC-Lösung für brauchbar, stark bakteriell durchsetzte Milch in kurzer Zeit zu erkennen. In Gegenwart von Milchsäurestreptokokken, Colibakterien und Bact. proteus geht die Reduktion zu Formazan sehr schnell vonstatten. Das p_H -Optimum der Reduktaseprobe beträgt etwa 7,5 bis 8.

S c h ö n b e r g (33) prüfte auch einen mit TTC in verschiedenen Konzentrationsstufen versetzten 3%igen Nähragar in seinem Verhalten gegenüber verschiedenen Coli-Stämmen und anderen in der Milch vorkommenden Keimen. Es ergab sich, daß auf TTC-Agar 1 : 2000 die verschiedenen Bakterien an ihrer typischen Formazanbildung erkannt werden können. Colibakterien bilden kräftige, rundliche Kolonien von tiefroter Formazanfarbe mit einem hellen Hof. Einen TTC-Agar 1 : 450 hält S c h ö n b e r g (34) für geeignet, um die meisten Coli-Aerogenesbakterien zu einem deutlichen Wachstum zu bringen, während andere in der Milch vorhandene Keime nur spärlich und größtenteils ohne Bildung von Formazan wachsen. Um die für einige Keime der Coli-Aerogenes-Gruppe ungünstige Beeinflussung durch die TTC-Konzentration 1 : 450 im Nährmedium auszugleichen, empfehlen S c h ö n b e r g und K r a u s (35) erstens einen Laktosezusatz von 0,5 %, zweitens dem üblichen 3%igen Nähragar nicht wie bisher 1 %, sondern 2 % Pepton zuzusetzen und drittens die Verwendung von Hefewasser.

2. Praktische Anwendung der Coli-Streifen

Jeder Streifen ist trocken und steril, sowie luft- und feuchtigkeitsdicht in einer durchsichtigen Kunststoffhülle verpackt. Die Kunststoffhülle ist aufzutrennen, der Streifen mit den Fingern zu entnehmen und in die Testflüssig-

keit einzutauchen. Dabei lösen sich die im Streifen enthaltenen Nährstoffe. Durch den Quellvorgang der Papierfaser werden die Keime fixiert. Der feuchte Streifen wird in die Kunststoffhülle zurückgebracht, das mit den Fingern angefaßte Streifenende vom übrigen Teil abgetrennt und die Hülle durch eine Schweißnaht mit der Flamme wieder verschlossen. Nach einem Brutschrankaufenthalt von 8 - 10 Stunden bei 37° C zeigen sich auf den weißen und grünen Streifen, wenn die entnommene Flüssigkeit Colibakterien enthält, rote, punktförmige Kolonien, die durch den transparenten Kunststoffbeutel zu erkennen sind. Die Anzahl dieser Kolonien entspricht der Anzahl der Colibakterien in der aufgesaugten Flüssigkeitsmenge.

Bei länger als 10 Stunden dauernder Bebrütung der Streifen können weitere rote Kolonien entstehen, die sich aber schon in ihrer Farbe von den bräunlich-violett-roten Kolonien der Colikeime unterscheiden. Solche Kolonien können von Mikrokokken, *Bact. fluorescens*, *Bact. proteus* und anderen Keimen gebildet werden. Eine längere Bebrütungsdauer der Streifen empfiehlt sich auch schon deshalb nicht, weil die anfangs punktförmigen Colikolonien dann zu unregelmäßig ausgebreiteten roten Flecken werden. Eine diffuse Rötung des Streifens ohne Ausbildung von Einzelkolonien tritt ein, wenn die Zahl der Colibakterien in der Testflüssigkeit sehr groß ist.

Wegen der für die Praxis ungünstigen Bebrütungszeit von 8 - 10 Stunden können die Streifen nach der Probeentnahme auch für Stunden im Eisschrank (bei 1 - 5° C) aufbewahrt und erst später bei 37° C bebrütet werden.

Die bebrüteten Streifen sind, wenn sie gleich nach der Ausbildung von Kolonien bei Eisschranktemperatur aufbewahrt werden, für etwa zwei Wochen nahezu unverändert haltbar. Trocknet man die Streifen ohne Hülle bei einer Temperatur von 50 - 60° C, dann können sie als Belege unbegrenzt lange aufbewahrt werden.

Die Coli-Streifen sind sehr lichtempfindlich. Besonders Tageslichtlampen in Laboratorien mit ihrer erhöhten UV-Lichtwirkung rufen schnell eine rosa oder rote Verfärbung der Streifen hervor. Derart veränderte Streifen sind unbrauchbar.

Das sorgfältige Verschweißen der Kunststoffhülle nach der Probeentnahme ist sehr wichtig. Bei nicht luftdichtem Verschuß verdunstet die Feuchtigkeit bei der Bebrütung und die Entwicklung von Kolonien unterbleibt vollkommen oder teilweise.

Die Ausbildung scharf begrenzter Kolonien vermag man in manchen Fällen da-

durch zu unterstützen, daß der feuchte Streifen vor der Bebrütung leicht an die Wand der Hülle angepreßt wird. Der Streifen saugt sich dann am Kunststoff fest.

Für den Nachweis von Coli-Aerogenesbakterien stehen weiße und grüne Streifen mit einem Saugvolumen von 0,1 ml und 1,0 ml zur Verfügung. Die neuentwickelten Cored-Streifen sind lichtunempfindliche Coli-Streifen, die im Durchschnitt 12 - 14 Stunden bebrütet werden müssen. Auf diesen Streifen entwickeln sich nicht rote, sondern blau-schwarze Kolonien, die selbst bei einer Bebrütungszeit von 15 oder 16 Stunden noch nicht verlaufen. Die Cored-Streifen sind besonders für den Nachweis stark säurebildender Colibakterien geeignet.

Für den Coli-Nachweis in hochviskösen oder sauren Flüssigkeiten (wie Sahne und Joghurt) sind Spezialstreifen vorhanden. Die Handhabung des Streifens ist mit einer Kunststoffmanschette versehen, die nach der Probeentnahme über den Streifen gezogen wird und dabei überschüssige Mengen des Untersuchungsmaterials abstreift.

Flüssigkeitsmengen bis zu 50 ml werden in der Weise entnommen, daß ein größerer, rechteckiger Papierstreifen zusammen mit einer Kunststoffolie zu einer Rolle aufgewickelt wird. Diese Untersuchung eignet sich für die Prüfung des Wassers auf Colibakterien.

Schließlich stehen auch für den Coli-Nachweis im Harn Spezialstreifen zur Verfügung.

B. Ergebnisse des "bacto-strip"-Verfahrens

B e c k (1) verglich die Streifenmethode mit dem Gentianaviolett-Galle-Milchzucker-Peptonwassernährmedium nach Kessler und Swenarton und dem Fuchsin-Laktose-Agar nach Endo in Form der Platten- und Hochschichtmethode. Dabei wurden 346 Proben von Roh-, sowie kurzzeit- und hocherhitzter Milch in verschiedenen Verdünnungsreihen untersucht. 86,7% der Proben zeigten eine Übereinstimmung mit einem der angegebenen Nährmedien. Die Dauer der Bebrütung wird mit 8 - 12 Stunden angegeben.

S e e l e m a n n und W e g e n e r (36) prüften TTC-haltige Nährmedien auf ihre Eignung für bakteriologische Routineuntersuchungen. 40 Milchproben

(20 Proben Rohmilch und 20 Proben pasteurisierte Milch) wurden jeweils mit 5 TTC-haltigen und 9 anderen Nährmedien, einschließlich den Streifen, auf Desoxycholat- und Brillantgrün-Grundlage untersucht. Die Gesamtzahl der auf den 1 ml-Streifen ausgezählten Kolonien und die durch feste Nährböden erzielten Ergebnisse ermöglichen folgenden Vergleich:

Durchschnittszahl der coliformen Kolonien

Nährböden	Kolonien insgesamt
feste Nährböden	107
bacto-strip	91

Keimartbestimmungen der auf den Streifen rotgefärbten Kolonien durch Anzüchtung in Bouillon ergaben bei 20 Untersuchungen 4mal *E. coli*, 4mal *E. freundii*, 5mal Intermediuskeime und 2mal *A. aerogenes*, während 5mal die Keime als nicht zu den coliformen Bakterien gehörig zu betrachten waren. Bei der Untersuchung der 40 Milchproben in verschiedenen Verdünnungsstufen wurden mit der Streifenmethode Coli-Titer festgestellt, die in 3/4 der Fälle mit den durch andere Nährmedien ermittelten Titern übereinstimmten. Die Streifen wurden 8 Stunden im Brutschrank belassen.

F u t s c h i k (15) untersuchte vergleichend mit Gentianaviolett-Galle-Laktose-Peptonwasser nach Kessler und Swenarton, dem Natriumdesoxycholat-Agar nach Leifson und den 1 ml-Colistreifen. Dabei wurde bei der Streifenmethode jeweils die Parallelprobe über Nacht im Kühlschrank bei $+1^{\circ} - +5^{\circ} \text{C}$ aufbewahrt und erst am nächsten Morgen bebrütet. Die Ergebnisse der sechsmonatigen Überprüfung, angegeben in Prozenten aller Proben zeigen, daß der Coli-Titer des "bacto-strip"-Verfahrens bei sofortiger Bebrütung des Streifens in 66% der Fälle gleich mit dem der Colibestimmung nach Kessler und Swenarton und in 54% der Fälle gleich mit dem der Colibestimmung nach Leifson ist. Die entsprechenden Prozentzahlen für die Parallelproben, die über Nacht im Eis-schrank aufbewahrt wurden, lauten 59,5% und 48,0%.

G a l e s l o o t (16) prüfte die weißen 0,1 ml- und 1,0 ml-Streifen sowie die grünen 1,0 ml-Streifen. Als Vergleichsnährmedien benutzte er den Desoxycholat-Agar nach Leifson und die Brillantgrün-Galle-Bouillon. Diese Nährmedien zeigten auffallend mehr Colibakterien an als die Streifenmethode. Die weißen 1,0 ml-Streifen zeigten im Durchschnitt mehr Kolonien an als die grünen. Bei den Versuchen mit Reinkulturen zeigte es sich, daß es einzelne Stämme gibt, die von den Streifen nicht in der typischen, erwünschten Kolonie-

bildung erfaßt werden können. Nach der normalen Bebrütungszeit entwickelten sich keine oder nur wenige punktförmige Kolonien, bei weiterer Bebrütung entstanden unregelmäßige rote Flecken, die ineinander übergingen.

G e r n e r und H e n n i n g (17) untersuchten 125 durch Sondierung gewonnene Galleproben und 49 Katheterurine mit dem "bacto-strip"-Verfahren. Gleichzeitig wurden die Proben von einer bakteriologischen Untersuchungsanstalt nach den üblichen Routinemethoden untersucht. Übereinstimmende Ergebnisse gab es in 110 von 125 Galleproben. Coli-Aerogenesbakterien ließen sich in 39 Proben nachweisen, davon in 24 Proben mit beiden Methoden. Elfmal war beim Streifenverfahren ein positiver Colibefund, während die Routineuntersuchung negativ verlief. Viermal war die Routinemethode positiv und die Streifenmethode negativ. Bei der Untersuchung von 49 Katheterurinen gab es in 45 Proben übereinstimmende Ergebnisse. In 7 Proben wurden übereinstimmend Colibakterien nachgewiesen. In 2 Proben wurden mit der Streifenmethode Colibakterien gefunden, während die Routinemethode negativ verlief, und zweimal war die Routinemethode positiv und die Streifen zeigten nicht an.

P f e i f f e r (28) führte in mehreren hundert Fällen den Nachweis von Colibakterien mit dem "bacto-strip"-Verfahren und gleichzeitig mit dem Gentianaviolett-Galle-Laktose-Peptonwasser nach Kessler und Swenarton durch. Milch und Speiseeis wurden unverdünnt und in den Verdünnungen 1 : 10 und 1 : 100 mit 0,1 ml- und 1,0 ml-Streifen untersucht. Die Ergebnisse beider Methoden stimmten "nahezu in allen Fällen" sehr gut überein. Die in den meisten Fällen zusätzlich beimpften Endo-Agarplatten zeigten dagegen Ergebnisse, die mit denen des "bacto-strip"-Verfahrens wenig übereinstimmten. Die besseren Ergebnisse wurden mit den Brillantgrün-Streifen erzielt, weil sie eine sicherere Auszählung der roten, punktförmigen Kolonien ermöglichen. Nach P f e i f f e r haben sich auch die 10 ml-, 20 ml- und 30 ml-Streifen für den Coli-Nachweis in Wasserproben bewährt.

Etwa 100 Milchproben - Rohmilch und pasteurisierte Milch verschiedenen Alters - wurden von G u m (18) mit den Coli-Streifen (nähere Angaben über die Streifensorte fehlen!) und dem Gentianaviolett-Galle-Milchzucker-Peptonwasser-nährmedium nach Kessler und Swenarton untersucht. Es herrschte eine sehr gute Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden.

Bei der Untersuchung von 40 Wasserproben aus verschiedenen Dorfbrunnen wurden 1 ml-Coli-Streifen verwendet (4). B o r n e f f hält die 1 ml-Streifen zur Untersuchung von Wasserproben für nicht geeignet und betont die Notwendigkeit, für solche Untersuchungen Streifen mit einem größeren Saugvolumen

zu verwenden.

B o r n e f f und F r o b e l (5) verwendeten bei ihren Untersuchungen 1 ml-Streifen. Geprüft wurden künstlich und natürlich infizierte Milch und Milchprodukte. 300 Streifen wurden mit Milch, Eismix und Schlagrahm, die künstlich infiziert waren, getestet. Die künstliche Infektion erfolgte mit Reinkulturen von *E. coli*, *A. aerogenes* und mit frisch abgesetzten Fäzes. Als Vergleichsmedium diente der Endo-Agar. Es ergab sich, daß im Mittel 46% der auf der Endoplatte als zur Coli-Aerogenes-Gruppe gehörig festgestellten Kolonien auf den Streifen ausgezählt werden konnten. Hundert Proben von Roh- und Kannenmilch, von Speiseeis aus Rohmilch, von käuflichem Speiseeis und von Schlagrahm wurden mit dem "bacto-strip"-Verfahren und dem Nitratreduktionstest untersucht. In 36 % der Fälle wurde bei beiden Methoden übereinstimmend ein negativer, in 46 % der Fälle ein positiver Colibefund ermittelt. Sechs Proben waren nach der Nitratreduktionsprobe frei von Colibakterien, aber nach der Streifenmethode colibakterienhaltig, 12 Proben hingegen waren nach der Nitratreduktionsprobe colibakterienhaltig und nach der Streifenmethode frei von Colibakterien. Zur Festlegung der Anzahl coliformer Bakterien wurde bei diesen Versuchen auch die Endoplatte verwendet. $\frac{1}{100}$ der Koloniezahl auf Endoagar war auf den Streifen zu ermitteln.¹⁰

B o r n e f f und F r o b e l stellten weiter fest, daß die Schwankungsbreite der Anzeige von Colibakterien auf normalen Endoplatten - hinreichend gleichmäßige Keimverteilung vorausgesetzt - nur etwas größer ist als die auf den 1,0 ml-Streifen. Allerdings war eine im Vergleich zum Endoagar außerordentlich geringe Zahl von Kolonien auf den Streifen festzustellen. Diese Erfahrung wurde auch bei weiteren Versuchen mit Rohmilch gemacht. Abschließend wurden 100 Streifen mit einer gut durchmischten, mit *E. coli* künstlich infizierten Milch getestet. Nach 9-stündiger Bebrütung wurden auf den einzelnen Streifen von 0 bis 85 Kolonien ausgezählt. B o r n e f f und F r o b e l betonen, daß die hier aufgetretene hohe Streuung in der Hauptsache auf der inhomogenen Keimverteilung beruht. Sie kommen nach ihren umfangreichen Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß das "bacto-strip"-Verfahren für den milchwirtschaftlichen, besonders käseereitechnischen Nachweis von Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe zu empfehlen ist.

Mit Stämmen von *A. aerogenes* und *E. coli* künstlich infizierte Milch sowie verschieden vorbehandelte Lieferantenmilch in verschiedenen Verdünnungsstufen wurde von R i t t e r (31) mit allen zur Untersuchung von Milch und Milchprodukten, von Harn und Galle im Handel befindlichen Coli-Streifen geprüft. Als Vergleichsnährmedien wurden Fleischwasseragar, Bacto-Violettrot-

Galle-Agar und das Formiat-Ricinoleat-Nährmedium nach Stark und England verwendet. Das veröffentlichte Zahlenmaterial - eine Gegenüberstellung der bei den vergleichenden Untersuchungen ermittelten Anzahl von Kolonien der Coli-Aerogenes-Gruppe, die auf den Streifen und auf den Nährböden auszuzählen waren - beweist nach R i t t e r, daß das "bacto-strip"-Verfahren eine für die Praxis vollständig genügende Genauigkeit und Selektivität besitzt.

C i b l i s und W e g e n e r (6) prüften das "bacto-strip"-Verfahren auf seine Eignung für die bakteriologische Betriebskontrolle in Molkereien. 100 Rohmilchproben, 100 Proben kurzzeiterhitzter Milch und 50 Wasserproben wurden mit den 0,1 ml- und 1,0 ml-Desoxycholat-Streifen, dem TTC-Laktose-Agar nach Schönberg und dem Gentianaviolett-Galle-Milchzucker-Peptonwassernährmedium nach Kessler und Swenarton untersucht. Die Proben kurzzeiterhitzter Milch und die Wasserproben waren mit einer Kultur, die E. coli und A. aerogenes etwa im Verhältnis 1 : 1 enthielt, künstlich infiziert. Der TTC-Agar zeigte durchschnittlich mehr Kolonien an als das Papierstreifenverfahren. C i b l i s und W e g e n e r kommen ebenfalls zu dem Ergebnis, daß das "bacto-strip"-Verfahren den Anforderungen für eine bakteriologische Kontrolle der Anlieferungsmilch genügen würde.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material

25 Proben pasteurisierter Milch, 40 Rohmilchproben und 20 Proben künstlich infizierter Magermilch wurden in verschiedenen Verdünnungsstufen auf ihren Gehalt an Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe mit dem "bacto-strip"-Verfahren und dem Plattenkulturverfahren (Gaßner-Platte) untersucht. Dabei wurden 910 weiße Desoxycholat-, 910 grüne Brillantgrün- und 80 rote Violettröt-Galle-Streifen (Cored-Streifen) getestet.

1. Coli-Streifen

Folgende Coli-Streifen wurden getestet:

- a) weiße Desoxycholat-Streifen mit einem Saugvolumen von 0,1 und 1,0 ml
- b) grüne Brillantgrün-Streifen mit einem Saugvolumen von 0,1 und 1,0 ml
- c) rote Cored-Streifen mit einem Saugvolumen von 1,0 ml

Erzeugerfirma: Retorte KG, Röthenbach/Pegnitz

Vertriebsfirma: Bakteriologisches Institut Dr. Rentschler u. Co.

2. Gaßner-Agar-Platte

Der Metachromgelb-Laktose-Agar nach Gaßner wurde nach der folgenden Vorschrift hergestellt:

50 g Laktose und 0,85 g Wasserblau werden in 85 ccm dest. Wasser gelöst und 10 Minuten im Dampftopf erhitzt. 1,2 g Metachromgelb wird in 60 ccm dest. Wasser gelöst und für 2 Minuten ebenfalls in den Dampftopf gestellt. Beide Lösungen werden danach 1000 ccm sterilem verflüssigtem Nähragar zugesetzt und das ganze nochmals für zwanzig Minuten im Dampftopf erhitzt. Der p_{H} -Wert wird auf 7,6 eingestellt.

Nach dem Gießen in Platten wurde der Nährboden für 24 Stunden im Brutschrank und nach dem Aussortieren eventuell durch Keime verunreinigter Platten anschließend im Eisschrank bis zum Gebrauch aufbewahrt.

3. Milchproben

Die Rohmilchproben stammten aus der Molkerei Hanselmann in München, die Proben pasteurisierter Milch aus verschiedenen Einzelhandelsgeschäften der Stadt.

4. Reinkulturen

Bei den zur künstlichen Infizierung der Magermilch verwendeten Reinkulturen von *Escherichia coli* handelte es sich um folgende Stämme:

Colifer	isoliert aus einer Schluckvakzine (Herst.: Asta-Werke)
Mutaflor	" " " " " (Herst.: Hageda-AG)
Stocke W	bezogen von Kauffmann, Kopenhagen
O8K	" " " "
F 41 Hall	" " " "
O 55	" " Privatdozent Dr. Braun, Heidelberg

Drei *Aerobacter-aerogenes*-Stämme und der *Klebsiella pneumoniae*-Stamm wurden der Sammlung des Tierhygienischen Institutes entnommen.

B. Methodik

1. "bacto-strip"-Verfahren

Bei der Anwendung des Verfahrens wurde die Kunststoffhülle an der Schmalseite, an der sich die Handhabe des Streifens befindet, mit der Schere aufgeschnitten und so geneigt, daß der herausgleitende Streifen an seiner Handhabe mit dem Daumen und Zeigefinger der rechten Hand erfaßt werden konnte. Nach kurzem Eintauchen des Streifens in die Untersuchungsflüssigkeit bis knapp an die Perforationslinie der Handhabe und nach Abschütteln äußerlich anhaftender Tropfen wurde der Streifen in der Weise in die röhrenförmig gehaltene Kunststoffhülle zurückgebracht, daß er ihre Innenwand erst dann berührte, wenn er sich in seiner ganzen Ausdehnung in der Hülle befand. Durch Druck mit Daumen und Zeigefinger der linken Hand wurde dann der feuchte Streifen von außen her in der Kunsthülle fixiert, mit der rechten Hand die noch am Streifen befindliche Handhabe durch Abreißen entfernt und durch Glattstreichen des Beutels für einen engen Kontakt des feuchten Streifens mit der

Innenwand der Kunststoffolie gesorgt.

Der Verschluß des Kunststoffbeutels erfolgte so, daß die Schnittkanten zwischen 2 Objektträger geklemmt und möglichst nicht mehr als 1 mm überstehend durch die Bunsenbrennerflamme gezogen wurden. Dadurch konnten diese glatt verschweißt und gezackte oder rillenförmige Ränder vermieden werden, die oft nicht luftdicht verschließen.

In einem vor Lichtstrahlen geschützten Brutschrank wurden die Desoxycholat- und Brillantgrün-Streifen bei einer Temperatur von 37°C und bei waagerechter Lagerung 8 - 12 Stunden, die Cored-Streifen 12 - 14 Stunden bebrütet.

Das Auszählen der punktförmigen Kolonien erfolgte bei den 1,0 ml-Streifen auf beiden Seiten, bei den 0,1 ml-Streifen nur auf einer Seite.

2. Plattenkulturverfahren

Mit geeichten, sterilen 0,1 ml-Pipetten wurde jeweils 0,1 ml der Untersuchungsflüssigkeit - natürlich und künstlich infizierter Milch - auf den Gaßner-Nährboden aufgetropft und die Flüssigkeitsmenge mit einem Drigalsky-Spatel auf der Agaroberfläche verteilt. Es wurde stets darauf geachtet, daß nur Platten mit einwandfreier, trockener Oberfläche benutzt wurden. Das Auszählen der auf diesem Substrat blau erscheinenden Kolonien der Coli-Aerogenes-Gruppe erfolgte nach 24-stündiger Bebrütungszeit.

3. Untersuchung natürlich infizierter Milch

Von jeder dieser Milchproben wurden Verdünnungsstufen hergestellt. Die Rohmilch wurde bis zu einer Verdünnungsstufe von 10^{-6} , die pasteurisierte Milch bis 10^{-2} jeweils im Verhältnis 1 : 10 mit sterilem Wasser verdünnt. Die unverdünnte Milch sowie jede der 6 bzw. 2 Verdünnungsstufen der Proben wurde mit den Coli-Streifen untersucht und parallel dazu jeweils eine Gaßner-Agarplatte angelegt.

Als Verdünnungsflaschen dienten 200 ml-Flaschen mit Gummistopfen. Beim Herstellen einer neuen Verdünnung wurde stets die Pipette gewechselt. Durch kräftiges, mehrmaliges Schütteln der Proben in den Verdünnungsflaschen wurde eine homogene Keimverteilung angestrebt.

Um ein bequemes und einwandfreies Eintauchen der vier je Verdünnungsstufe zu prüfenden Streifensorten in die Untersuchungsflüssigkeit zu ermöglichen,

wurden die Verdünnungen zur Probeentnahme jeweils auf vier weitleumige Reagenzgläser verteilt und die vier Streifensorten auf diese Weise getrennt voneinander mit der Untersuchungsflüssigkeit getränkt.

4. Untersuchung künstlich infizierter Magermilch

Von den auf Schrägagar gehaltenen Reinkulturen der verwendeten Teststämme wurde mit einer ausgeglühten Öse etwas Material zur Infizierung steriler Magermilch entnommen, damit 5 ml sterile Magermilch beimpft und diese dann 12 Stunden lang bei 37° C bebrütet. Nach dieser Bebrütungszeit wurde zunächst 0,1 ml der mit Keimen angereicherten Magermilch mit sterilem Wasser im Verhältnis 1 : 1000 verdünnt und dann davon mit steriler Magermilch eine weitere Verdünnung im Verhältnis 1 : 500 hergestellt.

Letztere Verdünnungsstufe und drei weitere von ihr ausgehende Verdünnungen mit sterilem Wasser im Verhältnis 1 : 10, 1 : 100 und 1 : 1000 wurden mit der "bacto-strip"-Methode und dem Plattenkulturverfahren vergleichend auf ihren Keimgehalt untersucht. Beim Herstellen jeder neuen Verdünnung wurde stets die Pipette gewechselt und durch kräftiges, mehrmaliges Schütteln der Untersuchungsflüssigkeit in der Verdünnungsflasche für eine möglichst homogene Keimverteilung gesorgt. Als Verdünnungsflaschen dienten ebenfalls 200 ml-Flaschen mit Gummistopfen.

Das Eintauchen der verschiedenen Streifensorten sowie die Beimpfung der Gaßner-Platten geschah in der gleichen Weise wie bei der Untersuchung natürlich infizierter Milch.

C. V e r s u c h e u n d V e r s u c h s e r g e b n i s s e

1. Untersuchungen von pasteurisierter Milch

25 Proben pasteurisierter Milch wurden mit dem "bacto-strip"-Verfahren und dem Plattenkulturverfahren vergleichend auf die Anzahl vorhandener Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe untersucht.

Bei sechs der Proben gelang weder ein Nachweis mit der Streifen- noch mit der Plattenmethode. Über die Ergebnisse der restlichen 19 Proben gibt Tabelle 1 Aufschluß.

TABELLE 1

Ergebnisse der Untersuchungen von pasteurisierter Milch mit Desoxycholat- und
Brillantgrün-Streifen

Lfd. Nr. der Probe	Ver- dünnung	ANZAHL DER KOLONIEN AUF				Desoxycholat- Streifen (1,0 ml)	Brillantgrün- Streifen (0,1 ml)	Desoxycholat- Streifen (1,0 ml)	Brillantgrün- Streifen (1,0 ml)
		Gaßner- Platte (0,1 ml)	Desoxycholat- Streifen (0,1 ml)	Brillantgrün- Streifen (0,1 ml)	Desoxycholat- Streifen (1,0 ml)				
1	10^0	7	1	0	34	11			
	10^{-1}	0	0	0	1	0			
	10^{-2}	0	0	0	0	0			
2	10^0	38	21	9	85	54			
	10^{-1}	1	2	0	7	4			
	10^{-2}	0	0	0	0	0			
3	10^0	>500	>100	>100	>250	>250			
	10^{-1}	>500	>100	>100	>250	>250			
	10^{-2}	122	65	52	>250	>250			
4	10^0	9	0	2	13	24			
	10^{-1}	0	0	0	0	1			
	10^{-2}	0	0	0	0	0			
5	10^0	17	6	9	52	62			
	10^{-1}	3	0	0	7	4			
	10^{-2}	0	0	0	0	0			

7	10^{-1} 10^{-2} 10° 10^{-1} 10^{-2} 10°	0 0 4 0 0 79	0 0 0 0 0 16	0 0 0 0 0 8	2 0 7 0 0 48	1 0 3 0 0 33
8	10° 10^{-1} 10^{-2} 10° 10^{-1} 10^{-2}	0 4 0 0 12 0	0 2 0 0 0 0	0 0 0 0 4 0	9 0 0 0 14 2	5 0 0 8 1 0
9	10° 10^{-1} 10^{-2} 10° 10^{-1} 10^{-2}	0 0 0 2 0 0	0 0 0 0 3 0	0 0 0 0 0 0	0 1 0 0 11 1	0 0 7 0 0 0
10	10° 10^{-1} 10^{-2} 10° 10^{-1} 10^{-2}	0 0 0 22 4 0	0 4 0 24 4 0	0 0 0 11 0 0	0 0 1 97 7 1	0 0 1 76 9 1
11	10° 10^{-1} 10^{-2} 10° 10^{-1} 10^{-2}	0 0 0 0 0 0	1 0 0 1 0 0	0 0 0 0 0 0	8 0 0 0 2 0	1 0 0 0 5 0
12	10° 10^{-1} 10^{-2} 10° 10^{-1} 10^{-2}	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
13	10° 10^{-1} 10^{-2} 10° 10^{-1} 10^{-2}	0 0 0 45 7 0	0 0 0 31 2 0	0 0 0 24 3 0	0 0 0 250 43 2	0 0 0 108 26 1
14	10° 10^{-1} 10^{-2} 10° 10^{-1} 10^{-2}					

TABELLE 1 / Fortsetzung

Lfd. Nr. der Probe	Ver- dünnung	Gäßner- Platte (0,1 ml)	ANZAHL DER KOLONIEN AUF			
			Desoxychol- lat- Streifen (0,1 ml)	Brillantgrün- Streifen (0,1 ml)	Desoxychol- lat- Streifen (1,0 ml)	Brillantgrün- Streifen (1,0 ml)
15	10 ⁰	8	3	1	15	10
	10 ⁻¹	1	0	0	2	0
	10 ⁻²	0	0	0	0	0
16	10 ⁰	29	17	16	61	44
	10 ⁻¹	1	2	3	6	1
	10 ⁻²	0	0	0	1	0
17	10 ⁰	4	0	0	9	2
	10 ⁻¹	0	0	0	0	0
	10 ⁻²	0	0	0	0	0
18	10 ⁰	12	3	5	52	41
	10 ⁻¹	2	0	0	8	3
	10 ⁻²	0	0	0	0	0
19	10 ⁰	0	0	0	1	3
	10 ⁻¹	0	0	0	0	0
	10 ⁻²	0	0	0	0	0

TABELLE 2

Der im "bacto-strip"-Verfahren ermittelte Colititer ist im Vergleich zu dem mit Hilfe des Plattenkulturverfahrens festgestellten angegeben in Prozentzahlen aller in Tabelle 1 untersuchten Proben pasteurisierter Milch:

	um 1 Größenordnung niedriger	in der gleichen Größenordnung	um 1 Größenordnung höher
Desoxycholat-Streifen (0,1 ml)	39,0 %	55,5 %	5,5 %
Brillantgrün-Streifen (0,1 ml)	55,5 %	44,5 %	0 %
Desoxycholat-Streifen (1 ml)	0 %	44,5 %	55,5 %
Brillantgrün-Streifen (1 ml)	5,5 %	44,5 %	50 %

Auf den mit pasteurisierter Milch und deren Verdünnungen beimpften Gaßner-Platten waren insgesamt 436 zur Coli-Aerogenes-Gruppe gehörige Kolonien zu ermitteln, während die 0,1 ml-Desoxycholat-Streifen 208 und die 0,1 ml-Brillantgrün-Streifen nur 149 derartiger Kolonien ergaben. Es zeigten demnach die weißen 0,1 ml-Streifen 47,7 % und die grünen 0,1 ml-Streifen gar nur 34,2 % der auf den Platten ausgezählten Kolonien an. Ein Vergleich der 1,0 ml-Streifen untereinander ergab, daß auf den weißen 1,0 ml-Streifen um 28,9 % mehr rote, punktförmige Kolonien auszuzählen waren als auf den entsprechenden grünen 1,0 ml-Streifen. Wegen der geringen Anzahl coliformer Keime in der untersuchten pasteurisierten Milch wurden die weiteren Versuche mit Rohmilch durchgeführt.

2. Untersuchungen von Rohmilch

40 Rohmilchproben wurden mit der "bacto-strip"-Methode und dem Plattenkulturverfahren vergleichend auf den Gehalt an coliformen Keimen untersucht.

Tabelle 3 gibt einen Überblick über die Ergebnisse dieser Untersuchungen.

TABELLE 3 1)

Coli-Endritter von 40 Rohmilchproben, festgestellt nach vergleichenden Untersuchungen mit dem Plattenkulturverfahren und der Streifenmethode

Säuer- probe (0,1 ml)	Desoxycholat- Streifen (0,1 ml)			Brillantgrün- Streifen (0,1 ml)			Desoxycholat- Streifen (1,0 ml)			Brillantgrün- Streifen (1,0 ml)		
	Zahl d. Proben	Ver- dünnung	Zahl d. Proben	Ver- dünnung	Zahl d. Proben	Ver- dünnung	Zahl d. Proben	Ver- dünnung	Zahl d. Proben	Ver- dünnung	Zahl d. Proben	Zahl d. Proben
10^{-3}	1	10^{-3}	1	10^{-3}	1	10^{-4}	1	10^{-4}	1	10^{-4}	1	1
10^{-4}	24	10^{-3}	8	10^{-3}	12	10^{-4}	6	10^{-4}	6	10^{-4}	15	15
		10^{-4}	16	10^{-4}	12	10^{-5}	18	10^{-5}	18	10^{-5}	9	9
10^{-5}	15	10^{-4}	11	10^{-3}	2	10^{-4}	0	10^{-4}	0	10^{-4}	4	4
		10^{-5}	4	10^{-4}	10	10^{-5}	10	10^{-5}	10	10^{-5}	9	9
				10^{-5}	3	10^{-6}	5	10^{-6}	5	10^{-6}	2	2

1) Auszüge aus den Tabellen der Originalarbeit

TABELLE 4

Der im "bacto-strip"-Verfahren ermittelte Colititer ist im Vergleich zu dem mit Hilfe des Plattenkulturverfahrens festgestellten angegeben in Prozentzahlen sämtlicher untersuchter Rohmilchproben:

	um 2 Größen- ordnungen niedriger	um 1 Größen- ordnung niedriger	in der glei- chen Größen- ordnung	um 1 Größen- ordnung höher
Desoxycholat- Streifen (0,1 ml)	0 %	47,5 %	52,5 %	0 %
Brillantgrün- Streifen (0,1 ml)	5,0 %	55,0 %	40 %	0 %
Desoxycholat- Streifen (1,0 ml)	0 %	0 %	40 %	60 %
Brillantgrün- Streifen (1,0 ml)	0 %	10 %	60 %	30 %

Eine Gegenüberstellung der auf den mit 0,1 ml Untersuchungsflüssigkeit beimpften Gaßner-Platten, den 0,1 ml-Desoxycholat- und den 0,1 ml-Brillantgrün-Streifen ermittelten Anzahl von Kolonien in den verschiedenen Verdünnungsstufen, die einen zahlenmäßigen Vergleich ermöglichten, ergibt sich folgendes Bild:

Gesamtzahl der festgestellten Kolonien auf		
Gaßner-Platten (0,1 ml)	Desoxycholat-Streifen (0,1 ml)	Brillantgrün-Streifen (0,1 ml)
6332	1981	1288

Danach wurden nur rund 31 % der mit dem Plattenkulturverfahren erfaßten Kolonien auf den Desoxycholat- und rund 20% auf den Brillantgrün-Streifen nachgewiesen.

Auf den 1,0 ml-Desoxycholat-Streifen wurden 4649, auf den entsprechenden 1,0 ml-Brillantgrün-Streifen 3638 Kolonien ausgezählt. Soweit die Ergebnisse der 0,1 ml-Streifen mit denen der 1,0 ml-Streifen überhaupt miteinander ver-

glichen werden können, so ergeben sich aus den nachstehenden Koloniezahlen für die verschiedenen Streifensorten die folgenden Relationen:

Brillantgrün-Streifen		Desoxycholat-Streifen	
0,1 ml	1,0 ml	0,1 ml	1,0 ml
486	3433	740	4211

Die Koloniezahlen der grünen 0,1 ml-Streifen und der grünen 1,0 ml-Streifen verhalten sich wie 1 : 7, die der weißen 0,1 ml-Streifen und der weißen 1,0 ml-Streifen wie 1 : 5 zueinander. Das bedeutet mit anderen Worten, daß möglicherweise die Streifen mit kleinerem Saugvolumen (0,1 ml) mit ihrer relativ größeren Oberfläche im Vergleich zum 1,0 ml-Streifen die Ausbildung von Kolonien begünstigen. Denn die Kolonienzahl der 1,0 ml-Streifen beider Streifensorten ergibt nicht das Verhältnis 1 : 10 wie eigentlich durch die um das 10-fache größere Saugfähigkeit der 1,0 ml-Streifen gegenüber der 0,1 ml-Streifen zu erwarten sein sollte.

3. Untersuchungen von künstlich infizierter Magermilch

20 wissentlich verunreinigte Proben von Magermilch, die mit Keimen von sechs *Escherichia coli*-, drei *Aerobacter aerogenes*-Stämmen und einem *Klebsiella pneumoniae*-Stamm infiziert waren, wurden wie die vorangegangenen Proben mit der "bacto-strip"-Methode und dem Plattenkulturverfahren untersucht. Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die Anzahl von Kolonien, die auf den beimpften Gaßner-Platten und mit Hilfe der Desoxycholat- und Brillantgrün-Streifen in den einzelnen Verdünnungsstufen ermittelt wurden.

Aus Tabelle 5 ist zu entnehmen,

1. daß von den zehn zur künstlichen Verunreinigung der Magermilchproben ausgewählten Stämmen coliformer Keime sechs in allen Fällen gut auszählbare punktförmige Kolonien auf den Streifen ergaben und daß auch eine gute Übereinstimmung der auf den Streifen und der auf der Platte ermittelten Kolonien festzustellen war.

Zwischen den Ergebnissen der Desoxycholat- und der Brillantgrün-Streifen bestehen gute Relationen.

2. daß in den Verdünnungen, die mit den drei Coli-Stämmen Mutaflor, O 8 K und O 5 5 angesetzt waren, sich auf den Streifen keine punktförmigen, roten Kolonien entwickelten. Statt punktförmiger Kolonien entstanden verschieden große rote Flecken, die ineinander übergingen und so eine Auszählung von Kolonien unmöglich machten. Die Streifen zeigten mitunter - entsprechend der Zahl der in der Untersuchungsflüssigkeit vorhandenen coliformen Bakterien - eine mehr oder weniger intensive Rotfärbung. Auf den Gaßner-Platten, die mit der die gleichen Keime enthaltenden Untersuchungsflüssigkeit beimpft worden waren, wuchsen stets einwandfrei auszählbare Kolonien.
3. daß alle in die Verdünnungen, die die Keime des Coli-Stammes F 41 Hall aufwiesen, eingetauchten Streifen auch noch nach 12-stündiger Bebrütung vollkommen unverändert geblieben waren. Es zeigten sich weder punktförmige Kolonien noch wurden die Streifen diffus rot gefärbt. Die beimpften Gaßner-Platten wiesen gut auszählbare Kolonien auf. Auch eine Wiederholung des Versuches mit dem Coli-Stamm F 41 Hall hatte das gleiche Ergebnis.

Alle der in Tabelle 5 aufgeführten Stämme wurden außerdem noch mit den erst kürzlich entwickelten Cored-Streifen getestet. Es sollte in erster Linie festgestellt werden, ob die auf den Desoxycholat- und Brillantgrün-Streifen nicht oder nur ungenügend anzeigenden Stämme mit den Cored-Streifen gegebenenfalls bessere Resultate ergeben.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 6 zusammengefaßt.

TABELLE 5

Ergebnisse der Untersuchungen von künstlich infizierter Magermilch mit
Desoxycholat- und Brillantgrün-Streifen

Keim- art	Bezeich- nung d. Stammes	Ver- dünnung	ANZAHL DER KOLONIEN) AUF				Desoxycholat- Streifen (1,0 ml)	Brillantgrün- Streifen (1,0 ml)
			Gaßner- Platte (0,1 ml)	Desoxycholat- Streifen (0,1 ml)	Brillantgrün- Streifen (0,1 ml)	Desoxycholat- Streifen (1,0 ml)		
E. coli	Colifer	5mal 10 ⁻⁵	128	109	98	> 250	> 250	
		5 " 10 ⁻⁶	15	9	11	113		
		5 " 10 ⁻⁷	3	1	< 1	8		
		5 " 10 ⁻⁸	0	0	0	2		
E. coli	Mutaflor	5mal 10 ⁻⁵	163	x	x	x	x	
		5 " 10 ⁻⁶	12	x	x	x	x	
		5 " 10 ⁻⁷	2	0	0	x	x	
		5 " 10 ⁻⁸	0	0	0	0	0	
E. coli	Stoecke W	5mal 10 ⁻⁵	255	148	131	> 250	> 250	
		5 " 10 ⁻⁶	31	16	9	196		
		5 " 10 ⁻⁷	5	2	0	27		
		5 " 10 ⁻⁸	0	0	0	1		
E. coli	O 8 K	5mal 10 ⁻⁵	157	x	x	x	x	
		5 " 10 ⁻⁶	22	x	x	x	x	
		5 " 10 ⁻⁷	3	x	0	x	x	
		5 " 10 ⁻⁸	0	0	0	0	0	
E. coli	F 41 Hall	5mal 10 ⁻⁵	278	0	0	0	0	
		5mal 10 ⁻⁶						

E. coli	0 55	5 " 10 ⁻⁵	5	0	0	0	0	0
		5 " 10 ⁻⁶	0	0	0	0	0	0
		5mal 10 ⁻⁵	198	x	x	x	x	x
		5 " 10 ⁻⁶	17	x	x	x	x	x
		5 " 10 ⁻⁷	4	x	x	x	x	x
A. aero- genes	I	5 " 10 ⁻⁸	0	0	0	0	0	0
		5mal 10 ⁻⁵	102	82	71	>250	>250	>250
		5 " 10 ⁻⁶	8	10	4	97	64	64
		5 " 10 ⁻⁷	<1	<1	0	7	8	8
		5 " 10 ⁻⁸	0	0	0	1	0	0
A. aero- genes	II	5mal 10 ⁻⁵	146	111	89	>250	>250	>250
		5 " 10 ⁻⁶	11	7	5	59	74	74
		5 " 10 ⁻⁷	3	0	0	7	5	5
		5 " 10 ⁻⁸	0	0	0	<1	0	0
		5mal 10 ⁻⁵	110	87	65	>250	>250	>250
A. aero- genes	F	5 " 10 ⁻⁶	20	6	6	79	68	68
		5 " 10 ⁻⁷	3	<1	0	8	7	7
		5 " 10 ⁻⁸	0	0	0	0	1	1
		5mal 10 ⁻⁵	138	104	91	>250	>250	>250
		5 " 10 ⁻⁶	18	8	10	72	62	62
K. pneu- moniae	A	5 " 10 ⁻⁷	2	0	<1	4	5	5
		5 " 10 ⁻⁸	0	0	0	<1	0	0
		5mal 10 ⁻⁵	0	0	0	<1	0	0

1) Die angegebenen Koloniezahlen stellen die Durchschnittswerte zweier mit dem gleichen Teststamm angesetzter Proben dar.

Zeichenerklärung: x = Zahl der anzeigenden
Keime ist unbekannt (eine diffuse Rotfärbung
des Streifens verhindert das Auszählen von
Kolonien)

Aus Tabelle 6 geht hervor, daß die geprüften Stämme coliformer Keime in der gleichen Weise reagierten wie bereits mit den Desoxycholat- und Brillantgrün-Streifen mit Ausnahme des Stammes F 41 Hall.

Die Stämme Mutaflor, O 8 K und O 5 5, die die Desoxycholat- und Brillantgrün-Streifen ohne Bildung von Kolonien nur diffus rot färbten, verursachten auch auf den Cored-Streifen nur eine diffuse Verfärbung, die sich auf Grund der andersartigen Nährbodenzusammensetzung hier als eine Blaufärbung des Streifens äußerte. Der Coli-Stamm F 41 Hall, der keinerlei Reaktion auf den Desoxycholat- und Brillantgrün-Streifen hatte sichtbar werden lassen, sprach bei der Verwendung der Cored-Streifen mit der erwünschten punktförmigen Koloniebildung an.

Die Cored-Streifen, die nur mit einer Saugfähigkeit von 1,0 ml im Handel sind, konnten demgemäß auch nur mit einer um das 10fache größeren Menge an Untersuchungsflüssigkeit gegenüber der beim Plattenkulturverfahren geprüften getestet werden. Bei Berücksichtigung dieses Faktors beim Vergleich der ermittelten Kolonienzahlen beider Verfahren ergab sich eine gute Übereinstimmung in den Ergebnissen.

D. B e s p r e c h u n g d e r E r g e b n i s s e

Die eigenen Untersuchungen von natürlich infizierter Milch mit dem "bacto-strip"-Verfahren ergaben, daß die durch die Streifenmethode ermittelten Colititer bei allen Proben pasteurisierter Milch in rund 67 % (Desoxycholat-Streifen) bzw. rund 58 % (Brillantgrün-Streifen) der Fälle, bei allen Rohmilchproben in rund 53 % (Desoxycholat-Streifen) bzw. rund 40 % (Brillantgrün-Streifen) der Fälle mit den durch das Plattenkulturverfahren ermittelten Colititern übereinstimmten. Aus den Tabellen 2 und 4 geht außerdem hervor, daß die im "bacto-strip"-Verfahren ermittelten und vom Plattenkulturverfahren abweichenden Colititer in der Mehrzahl der Fälle um eine Größenordnung niedriger, in ganz seltenen Fällen um zwei Größenordnungen niedriger oder um eine Größenordnung höher waren als die Colititer des Plattenkulturverfahrens.

Ein Vergleich der auf den Streifen und auf den dazugehörigen Platten ermittelten Kolonien ergab hingegen, daß 47,7 % (Desoxycholat-Streifen) bzw. 34,2 % (Brillantgrün-Streifen) in pasteurisierter Milch und nur 31 % (Des-

oxycholol-Streifen) bzw. 20 % (Brillantgrün-Streifen) der in Rohmilch mittels dem Plattenkulturverfahren nachgewiesenen Kolonien auf den Streifen ausgezählt werden konnten.

Der Grad der Übereinstimmung der Ergebnisse des Papierstreifenverfahrens und des Plattenkulturverfahrens weicht bei der Untersuchung von pasteurisierter Milch und von Rohmilch auffallend voneinander ab. Bei einem Vergleich der Ergebnisse der Untersuchung einzelner Milchproben tritt dies noch deutlicher in Erscheinung. Auch die Angaben in der Literatur weisen darauf hin, daß große Schwankungen in den Ergebnissen des "bacto-strip"-Verfahrens und denen der Vergleichsnährmedien vorkommen. Als extreme Fälle seien die Angaben von Seelmann und Wegener (36) denen von Borneff und Frobel (5) gegenübergestellt. Von ersteren wurde bei der Untersuchung von 40 Milchproben mit dem Papierstreifen- und dem Plattenkulturverfahren unter Verwendung des gleichen Nährmediums bei beiden Verfahren übereinstimmend der gleiche Titer in 75 % der Fälle ermittelt. Die Durchschnittszahl der coliformen Kolonien auf den Streifen und auf den zum Vergleich herangezogenen festen Nährmedien betrug 91 bzw. 107. Bei Untersuchungen von natürlich und künstlich infizierter Milch durch Borneff und Frobel dagegen wurde nur $\frac{1}{10} - \frac{1}{100}$ der auf der Endoplatte gewachsenen Kolonien auf den Streifen ausgezählt. Daraus ergibt sich für die Beurteilung der eigenen Untersuchungen des Papierstreifenverfahrens, daß die durch beide Verfahren ermittelten Colititer eigentlich nur relativ geringgradigen Schwankungen unterworfen waren, wenn man die Versuchsanordnung, die Verschiedenheit des Nährmediums und die inhomogene Keimverteilung berücksichtigt. Letzteres kam bereits bei den Versuchen von Borneff und Frobel (5) besonders zum Ausdruck. Die auf den Streifen oft viel niedriger liegenden Kolonienzahlen erklären Borneff und Frobel dadurch, daß mitunter die 1,0 ml-Streifen nach dem Eintauchen in die Testflüssigkeit bereits mit 0,8 bis 0,9 ml schon vollgetränkt waren, während der Rest abtropfte. Bei eigenen Untersuchungen wurde als weitere Fehlerquelle festgestellt, daß Teile des Streifens während der Bebrütung nicht mit der Kunststoffolie in engem Kontakt blieben, wodurch an diesen Stellen die Entwicklung von Kolonien gänzlich oder stellenweise unterblieb.

Die Brillantgrün-Streifen zeigten im Durchschnitt weniger Kolonien an als die entsprechenden Desoxycholol-Streifen. Möglicherweise ist das im grünen Streifen enthaltene Nährmedium dem Wachstum der coliformen Keime weniger förderlich.

Wenn man davon ausgeht, daß das "bacto-strip"-Verfahren nur eine orientieren-

de Methode zum Schnellnachweis von Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe sein soll, so zeigen die Ergebnisse der Untersuchungen von natürlich infizierter Milch, daß für diesen Zweck das Verfahren durchaus diesen Anforderungen entspricht.

Die eigenen Untersuchungen von künstlich mit coliformen Bakterien infizierter Magermilch im "bacto-strip"-Verfahren ergaben, daß die zur künstlichen Infizierung verwendeten Stämme der Coli-Aerogenes-Gruppe in ihrem Verhalten in 3 Gruppen einzuteilen sind:

1. Stämme, die auf den Streifen mit der typischen und erwünschten Koloniebildung reagierten (sechs der zehn Teststämme).
2. Stämme, die auf den Streifen keine auszählbaren Kolonien zu bilden vermochten, sondern diese diffus rot (Desoxycholat- und Brillantgrün-Streifen) bzw. blau (Cored-Streifen) verfärbten (drei der zehn Teststämme).
3. Stämme, die auf den Streifen weder durch Koloniebildung noch durch diffuse Verfärbung reagierten. Dieses Verhalten wurde allerdings nur bei den Desoxycholat- und Brillantgrün-Streifen beobachtet, während die Cored-Streifen einwandfrei auszählbare blaue Kolonien zeigten (einer der zehn Teststämme).

Die Ergebnisse des "bacto-strip"-Verfahrens und des Plattenkulturverfahrens stimmten bei den Untersuchungen von künstlich infizierter Magermilch dann überein, wenn die Teststämme auf den Streifen eine einwandfreie Koloniebildung zeigten. Über gute Ergebnisse des "bacto-strip"-Verfahrens bei Versuchen mit künstlich infizierten Untersuchungsflüssigkeiten berichten auch G a l e s l o o t (16), R i t t e r (31), B o r n e f f und F r o b e l (5) und F ö r g (11). Auf das abweichende Verhalten einzelner Teststämme (diffuse Rotfärbung des Streifens statt Koloniebildung) bei der Prüfung der Coli-Streifen machte in der Literatur bisher nur G a l e s l o o t (16) aufmerksam. Bei den eigenen Untersuchungen waren die abweichenden Teststämme Vertreter von E.coli. Bei den Untersuchungen von G a l e s l o o t handelte es sich bei den abweichenden Stämmen ebenfalls in erster Linie um E.coli. Für das andersartige Verhalten dieser Stämme und das des Colistammes F 41 Hall - letzterer ist anscheinend nicht in der Lage, die in den Desoxycholat- oder Brillantgrün-Streifen enthaltenen Tetrazoliumverbindungen zu rotem Formazan zu reduzieren - fehlt bisher eine einwandfreie Erklärung.

Das unterschiedliche Verhalten der vier von zehn geprüften Teststämme dürfte wohl von wissenschaftlichem Interesse sein, von praktischer Bedeutung

aber für die Brauchbarkeit des "bacto-strip"-Verfahrens ist diese Feststellung nicht, zumal mit einer Verunreinigung durch diese auf Grund ihrer serologischen Zugehörigkeit zur Dyspepsiecoli-Gruppe und dem damit auch begrenzten Verbreitungsgebiet wohl kaum zu rechnen sein dürfte.

Es ist bekannt, daß keine der heute zur Verfügung stehenden Nachweismethoden alle Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe elektiv mit absoluter Sicherheit anzuzeigen vermag. Die verschiedenen in der Literatur berichteten Vergleichsuntersuchungen mit einzelnen Standardmethoden zeigen (1, 4, 5, 6, 15, 16, 17, 18, 28, 31, 36), daß bei den verschiedenen bakteriologischen Verfahren immer mit Schwankungen in der Anzeige von Colibakterien gerechnet werden muß. Das neuartige "bacto-strip"-Verfahren soll nun - wie F ö r g (11) auch ausdrücklich betont - eine praktische orientierende Methode zum Nachweis von coliformen Bakterien sein, das die wissenschaftlich-klassischen Methoden keineswegs ersetzen will. Nach den eigenen Untersuchungen und nach dem Studium der einschlägigen Literatur kann das "bacto-strip"-Verfahren zur Beantwortung molkereitechnischer Fragen als geeignet zum orientierenden Nachweis von Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe bezeichnet werden.

Des weiteren kommen dem "bacto-strip"-Verfahren folgende Vorteile zu:

1. Die Untersuchungsergebnisse liegen schon in etwa 10 Stunden vor.
2. Das Verfahren ist mit einem geringen Aufwand an Material und Arbeit durchzuführen.
3. Die Durchführung des Verfahrens ist so einfach, daß es auch vom Laien angewendet werden kann.
4. Die bebrüteten Streifen sind nach ordnungsgemäßer Trocknung als Belege unbegrenzt haltbar.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

1. Das neuartige "bacto-strip"-Verfahren nach F ö r g zum Schnellnachweis von Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe wurde in seiner Leistungsfähigkeit mit dem Plattenkulturverfahren unter Verwendung von Metachromgelb-Laktose-Agar nach Gaßner verglichen. 25 Proben pasteurisierter Milch, 40 Rohmilchproben und 20 Proben künstlich infizierter Magermilch wurden in verschiedenen Verdünnungsstufen mit insgesamt 910 Desoxycholat-, 910 Brillantgrün- und 80 Cored-Streifen geprüft.
2. Der durch das "bacto-strip"-Verfahren ermittelte Colititer stimmte in rund 67 % (Desoxycholat-Streifen) bzw. 56 % (Brillantgrün-Streifen) aller Proben pasteurisierter Milch und in 53 % (Desoxycholat-Streifen) bzw. rund 40 % (Brillantgrün-Streifen) aller Rohmilchproben mit dem durch das Plattenkulturverfahren ermittelten Colititer überein. Die Streifen zeigten durchschnittlich weniger Kolonien als die Gaßner-Platten an. Die Desoxycholat-Streifen erwiesen sich als leistungsfähiger als die entsprechenden Brillantgrün-Streifen.
3. Zur künstlichen Infizierung steriler Magermilch wurden 10 bekannte Teststämme coliformer Bakterien verwendet. Die Magermilchproben, die mit 6 dieser Stämme infiziert waren, zeigten eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden. Ein weiterer Stamm (*E. coli*) reagierte mit den geprüften Coli-Streifen mit Ausnahme der Cored-Streifen überhaupt nicht, während die restlichen 3 Stämme die Streifen nur diffus röteten (Desoxycholat- und Brillantgrün-Streifen) bzw. blau färbten (Cored-Streifen) und keine Kolonien bildeten.
4. Das "bacto-strip"-Verfahren, das eine praktisch-orientierende Methode sein soll, kann als geeignet zum Schnellnachweis von Keimen der Coli-Aerogenes-Gruppe angesehen werden.

V. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. B e c k , G.: Erfahrungen mit "Bacto-strip" zum Schnell-
nachweis von Keimen aus der Coli-Aerogenes-
Gruppe in Milch.
Milchwissenschaft 11, 49 (1956).
2. B e c k e r , H. und Vitalversuche am Zentralnervensystem mit
G. Q u a d b e c k : Triphenyltetrazoliumchlorid.
Naturwissenschaften 37, 565 (1950).
3. B i e l i g , H.-J., Über den Nachweis von Reduktionsorten in
G. A. K a u s c h e und Bakterien.
H. H a a r d i c k : Zschr. Naturforsch. 4b, 80 (1949).
4. B o r n e f f , J. : Methoden und Ziele der Colitestung.
Arch. Hyg. Bakt. 141, 491 (1957).
5. B o r n e f f , J. und Orientierungsteste auf "coliforme" Keime
B. F r o b e l : in Milch und Milchprodukten.
Arch. Hyg. Bakt. 141, 241 (1957).
6. C i b l i s , E. und Prüfung des "bacto-strip"-Verfahrens auf
K. W e g e n e r : seine Brauchbarkeit für die bakteriologische
Betriebskontrolle in Molkereien.
Dtsch. Molkerei-Ztg. 79, 237 (1958).
7. v. C z e r n u c k i - unveröffentlicht,
H r e b e l j a n o - zit. n. 22.
w i t s c h , M. :
8. D i f c o M a n u a l : 9th Ed. Detroit, Michigan (USA) 1953.
9. D o e r r , W. und Über die Leistungsbreite des Reduktionsindi-
E. v. L ü t t i c h a u : cators 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorids in
der Histologie.
Klin. Wschr. 27, 754 (1949).
10. F ö r g , F. J.: Bacto-strip-Verfahren.
Milchwissensch. Ber. 5, 262 (1955).

11. F ö r g , F.J.: Chemische und physikalische Grundlagen eines bakteriologischen Papierstreifenverfahrens (bacto-strip). Mitt.Lebensm.Unters.u.Hyg. Bern. 47, 191 (1956).
12. F ö r g , F.J.: "Bacto-strip": A simple bacteriological routine test method. Laboratory Practice 5, 439 (1956).
13. F ö r g , F.J.: Bakteriologisches Arbeiten mit einem Papierstreifenverfahren. Tierärztl.Umschau 9, 294 (1957).
14. F ö r g , F.J.: Persönliche Mitteilungen.
15. F u t s c h i k , J.: Über die Brauchbarkeit neuer Coli-Bestimmungsmethoden für die bakteriologische Stufenkontrolle. Österr.Milchwirtsch. 11, 70 (1956).
16. G a l e s l o o t , Th.E.: Het tellen van Coli-Aerogenes bacterien in melk met bactostrips van bacto-strip A.G. te Zürich. Ned.melk-en zuveltschr. 10, 166 (1956).
17. G e r n e r , G. und N. H e n n i n g : Über den Nachweis koliformer Bakterien in Galle und Katheterurin. Dtsch.med.Wschr. 81, 1669 (1956).
18. G u m : Persönliche Mitteilung an F.J. Förg.
19. H a u s s e r , J., D. J e r c h e l und R. K u h n : Ber. Dtsch. Chem. Ges. 82, 195 (1948).
20. J e r c h e l , D. und R. K u h n : Über stufenweise Hydrierung von Tetrazoliumsalzen. Liebigs Ann.Chem. 563, 200 (1949).
21. J e r c h e l , D. und W. M ö h l e : Die Bestimmung des Reduktionspotentials von Tetrazoliumverbindungen. Ber.Dtsch.Chem.Ges. 77, 591 (1944).
22. K u h n , R. und D. J e r c h e l : Über Invertseifen, VII. Mitteil.: Tetrazoliumsalze. Ber.Dtsch.Chem.Ges. 74, 941 (1941).

23. K u h n, R. und
D. J e r c h e l : Über Invertseifen, VIII.Mitteil.: Reduktion
von Tetrazoliumsalzen durch Bakterien, gären-
de Hefe und keimende Samen. Ber.
Dtsch. Chem.Ges. 74, 949 (1941).
24. L a k o n, G.: Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit der
Getreidefrüchte durch Tetrazoliumsalze.
Ber.Dtsch.Bot.Ges. 60, 299 (1942).
25. M a t t s o n, A.M.,
C.O. J e n s e n und
R.A. D u t c h e r : Science 106, 294 (1947).
26. M o e w u s, F.: unveröffentlicht, zit. n. 23.
27. v. P e c h m a n n, H. und
P. R u n g e : Oxydation der Formazylverbindungen.
Ber.Dtsch.Chem.Ges. 27, 2920 (1894).
28. P f e i f f e r : Persönliche Mitteilung an F.J. Förg.
29. P r e u n e r, R. und
J. v. P r i t t w i t z
u n d G a f f r o n : Über den Nachweis von Reduktionsorten in Ba-
zillen und Bakterien und ihren Zusammenhang
mit den sogenannten Nukleoiden.
Naturwissenschaften 39, 128 (1952).
30. R i e d, W.: Formazane und Tetrazoliumsalze, ihre Synthe-
sen und ihre Bedeutung als Reduktionsindika-
toren und Vitalfarbstoffe.
Angew. Chem. 64, 391 (1952).
31. R i t t e r, W.: Das "Bacto-strip"-Verfahren von F.J. Förg,
eine einfache Methode zur Ermittlung von
Colibakterien und von bakteriellen Verunrein-
igungen. Schweiz.Milchztg. 88 (1957).
32. S c h ö n b e r g, F.: Zur Brauchbarkeit der Tetrazoliumsalze für
die Reduktaseprobe (indirekte Keimzahlbestim-
mung) in Milch.
Lebensmitteltierarzt 2, 52 (1951).
33. S c h ö n b e r g, F.: Zum quantitativen Nachweis des Bact. coli
(Escherichia coli) in Milch und Wasser mit
Hilfe von Triphenyltetrazoliumchlorid-Agar
(T.T.C.-Agar). Lebensmitteltierarzt 4, 137
(1953).

34. S c h ö n b e r g, F.:
Nochmals zum quantitativen Nachweis des
Bact. coli (Escherichia coli) in Milch und
Wasser auf Triphenyltetrazoliumchlorid-
Agar (T.T.C.-Agar)
Lebensmittelärzt 4, 176 (1953).
35. S c h ö n b e r g, F. und
H. K r a u s:
Über eine weitere Verbesserung des TTC-
Agars zur Bestimmung coliformer Bakterien
in Milch.
Arch. Lebensmittelhyg. 7, 132 (1956).
36. S e e l e m a n n, M. und
K.-H. W e g e n e r:
Zum Nachweis von Escherichia-Aerobacter-
Keimen in Milchproben.
Milchwissenschaft 11, 51 (1956).
37. S i e g e r t, R.:
Zur Darstellung von Reduktionsorten in
Bakterien. Angew. Chem. 61, 258 (1949).
38. S t a n d a r d M e -
t h o d s f o r t h e
E x a m i n a t i o n
o f D a i r y P r o -
d u c t s
9th Ed., Am. Publ. Health Assoc., New York
1948.
39. S t r a u s, F.H.,
N.D. C h e r o n i s und
E. S t r a u s:
Science 108, 113 (1948).
40. W u n d t, W.:
Untersuchungen über die Reduktionswirkung
von Bakterien auf Triphenyltetrazolium-
chlorid.
Dtsch.med.Wschr. 75, 1471 (1950).

Zum Schluß meiner Arbeit möchte ich Herrn
Prof. Dr. A. M e y n für die Überlassung
des Themas und die Unterstützung der Arbeit
herzlich danken.

Mein Dank gilt auch Frau Dr. B. M e h n e r t
für ihre Ratschläge bei der Anfertigung der Ar-
beit.

LEBENS LAUF

Ich, Wolfram Hubertus Gedek, wurde am 15. April 1932 als Sohn des Landwirts Walther Gedek und seiner Ehefrau Martha, geb. Weichenhain, in Zittau in Sachsen geboren.

Von 1938 - 1942 besuchte ich die Volksschule in Seitendorf, Kreis Zittau, und von 1942 - 1950 das Staatliche Gymnasium in Zittau, das ich im Jahr 1950 nach bestandener Reifeprüfung verließ.

Nach praktischer Tätigkeit in der Landwirtschaft begann ich im Sommersemester 1952 mit dem Studium der Tiermedizin an der Freien Universität in Berlin. Nach dem Physikum im Wintersemester 1954/55 wechselte ich zur Ludwig-Maximilians-Universität in München über und bestand hier nach dem Sommersemester 1957 die tierärztliche Prüfung.

